

Konstruksi baculovirus rekombinan penyandi protein pembentuk virus-like particle H5N1 menggunakan green fluorescent protein sebagai penanda = Construction of H5N1 virus-like protein encoding recombinant baculovirus using green fluorescent protein as a marker

Debie Rizqoh, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20403580&lokasi=lokal>

Abstrak

Indonesia is one country with highest number cases of H5N1 influenza virus infection. Therefore, it is necessary to attempt to overcome the infection and prevent a pandemic. Vaccines are one of the effective efforts for the prevention of infectious diseases. This study will be developed H5N1 virus-like particle (VLP) vaccine detection system with green fluorescent protein (GFP). H5N1 VLP and GFP protein encoding plasmid was constructed in a transient pBACgus4x-1 which has four promoters of baculovirus expression, two polh promoters and two p10 promoters. Construction of plasmid transient conducted gradually. Each H5N1 VLP protein (HA, NA, and M) encoding gene and the eGFP gene was inserted in a different promoter.

Based on analysis of polymerase chain reaction (PCR), restriction enzymes and sequencing, the recombinant plasmid construction pBACM1H5N1eGFP successfully obtained. Co-transfection of pBACM1H5N1eGFP with BacVector® 1000 showed GFP successfully expressed. GFP expressed continuously from co-transfection until 5th passage and used as a parameter of recombinant baculovirus infection and VLP encoding protein expression. Until the passage of the 5th, the highest percentage of expression is 3%. PCR results have confirmed the presence of VLP and GFP gene in Sf9 cells infected with recombinant baculovirus.

Results of immunostaining using polyclonal antibodies against HA, NA and M are observed in confocal microscopy have shown the presence of H5N1-forming protein expression is at GFP expressing cells. GFP detection system to control the H5N1 VLP expression has been successfully performed. The increase of titer recombinant baculovirus in Sf9 cells is required to detect recombinant baculovirus and VLP.

Indonesia merupakan salah satu negara dengan kasus infeksi virus influenza H5N1 terbanyak dibandingkan negara lainnya. Oleh karena itu perlu dilakukan usaha untuk menanggulangi infeksi dan mencegah terjadinya pandemi. Vaksin merupakan salah satu upaya yang efektif untuk pencegahan penyakit infeksi. Dalam penelitian ini akan dikembangkan vaksin virus-like particle (VLP) H5N1 dengan sistem pendeteksi green fluorescent protein (GFP). Protein pengkode VLP H5N1 dan GFP dikonstruksi dalam satu plasmid transien pBACgus4x-1 yang memiliki empat promotor ekspresi baculovirus yaitu dua promotor polh dan dua promotor p10. Konstruksi plasmid transien dilakukan secara bertahap. Setiap gen pengkode VLP H5N1 (HA, NA, dan M) serta gen eGFP diinsersi di promotor yang berbeda.

Berdasarkan hasil analisis polymerase chain reaction (PCR), enzim restriksi dan sekuensing, konstruksi plasmid rekombinan pBACM1H5N1eGFP berhasil diperoleh. Kotransfeksi pBACM1H5N1eGFP dengan BacVector® 1000 memperlihatkan GFP berhasil diekspresi. Protein GFP berhasil diekspresi secara kontinu

dari tahap ko-transfeksi hingga pasase ke-5 dan dijadikan sebagai parameter infeksi baculovirus rekombinan dan ekspresi protein pembentuk VLP. Hingga pasase ke-5, persentase ekspresi paling tinggi hanya 3%. Hasil PCR telah mengkonfirmasi adanya gen penyandi VLP dan GFP di sel SF9 yang terinfeksi baculovirus rekombinan.

Hasil immunostaining menggunakan antibodi poliklonal terhadap HA, NA dan M yang diamati pada mikroskop konfokal telah menunjukkan adanya ekspresi protein pembentuk H5N1 yang berada pada sel pengeksresi GFP. Sistem pendeteksi GFP untuk kontrol ekspresi VLP H5N1 telah berhasil dilakukan. Peningkatan titer baculovirus rekombinan pada sel SF9 diperlukan untuk mendeteksi Baculovirus rekombinan dan VLP.